Aus der Hautklinik der Freien Universität Berlin
im Rudolf-Virchow-Krankenhaus
Direktor: Professor Dr. med. G. Stüttgen

Klinisch experimentelle Untersuchungen zur Freisetzung von hautreizenden Stoffen durch Corynebakterium Acnes

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den
medizinischen Fachbereichen der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Winfried Hägele
aus Justingen

1973

Aus der Hautklinik der Freien Universität Berlin
im Rudolf-Virchow-Krankenhaus
Direktor: Professor Dr. med. G. Stüttgen

Klinisch experimentelle Untersuchungen zur Freisetzung von hautreizenden Stoffen durch Corynebakterium Acnes

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den
medizinischen Fachbereichen der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Winfried Hägele
aus Justingen

Referent: Prof. Dr.med. G. Stüttgen

Korreferent: Prof. Dr. F. Klaschka

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fachbereiche der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 1. März 1973

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	1
Bakteriologische Methodik	5
Klinische Methodik	11
Ergebnisse	14
Zusammenfassung der Ergebnisse	37
Diskussion	40
Zusammenfassung	42
Literatur	43
Lebenslauf	48

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552710_0104

KLINISCH EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ZUR FREISETZUNG VON HAUTREIZENDEN STOFFEN DURCH CORYNEBAKTERIUM ACNES

EINLEITUNG

Bei der Pathogenese der Acne vulgaris (14,20) spielen neben anderen, hier nicht zu diskutierenden Vorgängen, drei Faktoren eine wesentliche Rolle:

1. Eine vermehrte Talgproduktion, die hervorgerufen wird durch hormonelle Einflüsse im Sinne einer Dysregulation.
2. Eine Hyperkeratose am Follikelausgang. Dadurch kommt es zum hyperkeratotischen Verschluß im epidermalen Anteil des Talgdrüsenausführungsganges und damit zur Retention des Talgs.
3. Eine bakterielle Infektion des Talgs und damit des Follikels, wobei das Corynebakterium acnes eine wesentliche Rolle spielt.

Bezüglich der Bedeutung der Infektion der Talgdrüsen durch Bakterien sind in letzter Zeit zahlreiche Untersuchungen angestellt worden, die zu folgender Hypothese führten:

Einer der am häufigsten in infizierten Talgdrüsen nachgewiesenen Mikroorganismen ist das Corynebakterium acnes. Bakteriologische Untersuchungen (18) zeigten, daß Acnepusteln zu 73 % mit C. acnes, zu 60 % mit Koagulase- negativen Kokken und zu 10 % mit Enterobakterien infiziert sind.

Das Corynebakterium acnes ist ein unter anaeroben Bedingungen lebendes, grampositives Stäbchenbakterium (7,21).

Es ist in der Lage, durch lipolytische Fermente die Triglyceride des Talgs zu hydrolisieren und damit die dabei entstandenen Fettsäuren dem eigenen Stoffwechsel zugängig zu machen (5,8,12,17). Anscheinend werden aber die langkettigen Fettsäuren, wie Stearinsäure, Palmitinsäure und ähnliche jedoch nicht quantitativ zur Essigsäure abgebaut, sondern es werden in einer Art Luxusstoffwechsel auch freie Fettsäuren in die Umgebung abgegeben. Der lipolytische Prozess spielt sich aber nicht nur intrazellulär in den Bakterien ab, sondern die Lipasen können auch nach außen sezerniert werden und somit auch in der Umgebung des Bakterienkörpers Triglyceride spalten (5,9). Als Beweis dafür, daß die Fettsäureproduktion an die Infektion gebunden ist, konnte belegt werden, daß steriler Talg, gewonnen aus Talgzysten, zumächst keine freien Fettsäuren enthält (16). Dies belegt, daß die Produktion von freien Fettsäuren eine spezifische Stoffwechselleistung der Bakterien darstellt.

Diese entstandenen Fettsäuren dringen nun durch die Follikelwandung in das perifollikuläre Gewebe ein und rufen dort eine anfangs abakterielle, chemische Entzündung hervor. Das Durchdringen der Follikelwand geschieht neben Diffusion anscheinend auch durch kleinste Rupturen, deren Entstehungsmodus allerdings noch nicht hinreichend bekannt ist (14). Natürlich dringen durch diese Öffnungen auch andere Bestandteile des Talgs hindurch, aber die freien Fettsäuren stellen in diesem Gemisch den am meisten irritierenden Faktor dar. Diese Irritation führt am Ende, nach erfolgter Infektion mit pyogenen Keimen, zu der typischen Acnepustel.

Bezüglich Triglyceridspaltung durch C. acnes konnte nachgewiesen werden, daß einzelne Stämme des Bakteriums unterschiedliche lipolytische Aktivitäten in Abhängigkeit von der Kettenlänge der Triglyceride zeigen (5). Weiter

konnte aber auch festgestellt werden, daß sich diese Aktivitäten bei C. acnes von Aknepatienten nicht von denen bei C. acnes von Normalpersonen wesentlich unterscheiden (5).

Andererseits konnte nachgewiesen werden, daß freie Fettsäuren irritierend auf die Haut wirken, und daß der Irritationsgrad von deren Kettenlänge abhängig ist (4). So zeigte sich, daß Fettsäuren mit der Kettenlänge C_6 - C_{14} besonders stark hautreizend wirken, wobei das Maximum bei C_8, C_{10} und C_{12} erreicht wurde. RAY und KELLUM (24) kamen zu analogen Ergebnissen, wobei sie noch zusätzlich feststellten, daß kein signifikanter Unterschied in der Irritationsstärke zwischen Aknepatienten und Normalpersonen bestand.

Wesentlich zur Stützung dieser Hypothese trug bei, daß durch Gabe von Tetracyklinen oder Erythromycin die entzündlichen Effloreszensen bei vielen Aknepatienten gebessert oder beseitigt werden konnten (1,2,3,6,9,11). Die Tetracykline werden nach oraler Applikation in den Talgdrüsen stark angereichert, was durch fluoreszentoptische Untersuchungen demonstriert werden konnte (2,15). Offensichtlich hemmen die Tetracykline bzw. Erythromycin die bakterielle lipolytische Aktivität und setzen auf diese Weise die Konzentration der freien Fettsäuren im Oberhautfett herab (5,19,22). So konnte durch die Arbeitsgruppe STRAUSS - POCHI (10) bewiesen werden, daß oral gegebene Tetracykline sowie Erythromycin den titrierbaren Gehalt an freier Säure des Talgs herabsetzen, ohne dabei den gesamten Fettsäuregehalt im Talg oder die Talgexkretion zu ändern. Auch KELLUM kam zu dem Ergebnis, daß Tetracyklin-Hydrochlorid in bestimmten Konzentrationen die hydrolytische Aktivität von C. acnes in vitro hemmt (5).

Zu analogen Ergebnissen gelangten auch MARPLESS, DOWNING und KLIGMAN (23).

Innerhalb dieser Beweiskette blieb aber die Frage offen, ob das Corynebakterium acnes in der Lage ist, solche Konzentrationen an freien Fettsäuren zu erzeugen, daß sie zu der beschriebenen Entzündung veranlassen können.

Es wurde deshalb zum Thema dieser Arbeit gestellt, ob mit Triglyceriden angereicherter Nährboden, der mit C. acnes beimpft wurde, nach erfolgter Sterilfiltration dazu in der Lage ist, zu acneiformen Entzündungen zu führen.

MATERIAL UND METHODIK

I. Bakteriologische Methodik

Es kamen fünf Stämme von Corynebakterium acnes zur Anwendung, die als Stamm A - E bezeichnet wurden. Das Kulturmaterial stammte von 5 verschiedenen Aknepatienten und zwar aus Pustel- und Comedoneninhalt, der mit Hilfe steriler Stieltupfer abgenommen wurde.

Das so gewonnene Material wurde wie folgt untersucht:

1. Mikroskopisch: Es wurden Primärpräparate nach Gram hergestellt.

2. Kulturell:
   a) aerob: Blut-, Endo- und McCorckney-Agar.
   b) anaerob: Blut- und Brain-heart-infusion (BHI)-Agar nach dem Fortner-Verfahren. Als Anreicherungsmedium wurde Thioglykolat-Nährmedium verwendet.

Aus allen 5 Abstrichen konnte C. acnes isoliert werden, in 2 Fällen (Stamm D und E) erst nach Anreicherung aus Thioglykolat. C. acnes lag in einem Fall als Reinkultur vor (Stamm A), in 3 Fällen (Stamm B, C, E) zunächst als Mischung mit Staph. albus und in einem Fall (Stamm D) mit Staph. albus und Staph. pyogenes aureus. Die Isolierung und Weiterzüchtung der Reinkulturen aus diesem Abstrichmaterial erfolgte bei 37°C auf BHI-Agar-Platten nach dem Fortner-Verfahren, im Anaeroben-Topf (Gas Pak Anaerobic System, BBL) und in Thioglykolatbouillon. Die reinen Stämme von C. acnes wurden alle 7 Tage neu beimpft.

Zur Differenzierung der einzelnen Stämme wurden folgende Merkmale berücksichtigt:

1. obligat anaerobes Wachstum
2. Katalase-Nachweis
3. Gelatineverflüssigung
4. Indolproduktion
5. Gerinnung- und Säurebildung in Lackmus-Milch
6. Nitratreduktion
7. Zuckerverstoffwechslung, speziell von:
   Glukose, Galaktose, Fruktose, Mannose,
   Trehalose, Saccharose, Maltose, Laktose
8. Hämolyse auf Blutplatten

Hierzu wurden folgende Medien verwendet:

ad 3. Gelatineverflüssigung

Heart-Infusion Broth (Difco)	25 g
Gelatine	100 g
Casitone	4 g
Hefe-Extrakt	5 g
Dextrose	5 g
Aqua dest.	1000 ml

gemischt, auf pH 7,0 eingestellt, autoklaviert bei 110°C 20 min.

ad 4. Indolproduktion

Casein-Bouillon nach Kristensen, Lester und Jürgens.

Indol-Reagenz nach Ehrlich-Böhme.

Paradimenthylamidobenzaldehyd	8 g
96 % Alkohol	760 ml
reine, konzentr. Salzsäure	160 ml

ad 5. Lackmusmilch

Magermilchpulver	100 g
Hefe-Extrakt	5 g
Dextrose	3 g
Lackmus	750 mg
Aqua dest.	1000 ml

gemischt, auf pH 7,0 eingestellt, autoklaviert bei 110°C 20 min.

ad 6. Nitratreduktion

Nährbouillon mit Zusatz von 0,1 % Kaliumnitrat.
Indikator: Sulfanilsäurelösung und
- Naphthylaminlösung.

ad 7. Zuckerverstoffwechslung

Thioglykolat-Bouillon ohne Dextrose und Indikator (Difco) 10 ml
12 ml/1 Bromthymolblau- Indikatorlösung (0,5 %)
0,5 ml sterilisierte 20 % Zuckerlösungen

Die Medien wurden jeweils 1 Woche bei 37°C bebrütet, danach die Ergebnisse abgelesen und in der folgenden Tabelle zusammengestellt. Als Negativkontrollen wurden jeweils die unbeimpften Medien verwendet.

Bakterienstamm	Anaerobes Wachstum	Katalase	Gelatineverflüssigung	Indolproduktion	Lackmusmilch	Nitratreduktion	Glukose	Galaktose	Fruktose	Mannose	Trehalose	Saccharose	Maltose	Laktose	Hämolyse
A	ja	+	+	+	AC	+	+	+	+	+	(+)	-	-	-	-
B	ja	+	+	+	AC	+	+	+	+	+	(+)	-	-	-	-
C	ja	+	+	+	AC	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
D	ja	+	+	±	AC	+	+	+	+	+	(+)	+	-	-	./.
E	ja	+	+	+	AC	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-

Tab. 1 Differenzierung der 5 Stämme (A - E) von C. acnes

AC = Säurebildung

Nach der Differenzierung der 5 Stämme sollte geprüft werden, ob C. acnes in einem mit Triglyceriden angereichertem Nährboden Wachstum zeigt und ob die darin angebotenen Triglyceride angegriffen bzw. verstoffwechselt werden.

Als Basismedium für diesen Versuch wurde BHI-Dextrosebouillon (Fa. Oxid) verwendet. Die Triglyceride bestanden aus einem Gemisch natürlicher, gesättigter Fettsäuren von C_{12} - C_{18} mit geringer Menge von Partialglyceriden der gleichen Fettsäuren (Hydroxylzahl unter 15, Schmelzpunkt 32°C - 33,5°C, Verseifungszahl 240 - 245). Es wurde mit Hilfe eines Ultra-Turrax-Homogenisators (Fa. Jahnke und Kunkel) eine 1%ige Emulsion des Triglyceridgemisches mit dem Basismedium hergestellt. Von dieser Emulsion wurde flüssiges Medium in Röhrchen gewonnen und nach Zusatz von Agar Platten gegossen. Die jeweils vorausgegangene Sterilisation erfolgte im Autoklaven 20 min. lang bei 110°C. (Vorausgegangene Studien haben gezeigt, daß durch den Prozeß der Sterilisation kaum Veränderungen der Triglyceride zu befürchten sind.) Sowohl die ausgegossenen Platten als auch das flüssige Medium zeigten ein stark milchig-trübes Aussehen durch die emulgierten Triglyceride. Die so gewonnenen Medien wurden mit mehr als 10^8 koloniebildungsfähigen Keimen von 7 Tage alten Kulturen beimpft und 9 Tage im Anaerobentopf (Gas Pak Anaerobic System, BBL) bei 37°C bebrütet. Als Kontrollen wurden unbeimpfte Triglycerid-Medien und beimpfte Brain-Heart-Medien ohne Triglyceride verwendet. Es zeigte sich nach dieser Zeit ein gutes Wachstum der Bakterien. In der unmittelbaren Umgebung der einzelnen Kolonien waren deutliche Aufhellungserscheinungen zu sehen und im flüssigen Triglyceridemulsionsmedium ein sichtbarer Verlust der Trübung gegenüber der nichtbeimpften gleichen Medien. Diese Erscheinungen wurden als

ein Beleg dafür gewertet, daß C. acnes durch die Anwesenheit der Triglyceride in seinem Wachstum nicht beeinträchtigt wurde und daß es zu einer Verstoffwechselung der angebotenen Triglyceride kam.

Aufhellungserscheinungen an der Peripherie der Kolonien von C. acnes auf mit Triglycerid angereichertem Brain-Heart-Infusion Agar, im auffallenden Licht fotografiert.

Bebrütungszeit: 9 Tage im Anaerobentopf bei 37°C.

Nach diesen Voruntersuchungen wurden die eigentlichen Testproben hergestellt. Es kamen fünf verschiedene, jeweils steril filtrierte Proben, zur anschließenden klinischen Testung:

1. Beimpfter, mit 1% Triglyceriden emulgierter Nährboden.
2. Beimpfter Nährboden ohne Triglyceride.
3. Beimpfter, entfetteter Nährboden ohne Triglyceride.
4. Unbeimpfter Nährboden mit 1 % Triglyceriden emulgiert.
5. Unbeimpfter, entfetteter Nährboden.

Als Nährboden wurde immer 15 ml Brain-Heart-Infusion (BHI)-Dextrosebouillon (Fa. Oxid) pro Röhrchen verwendet. Die Emulsion des Triglyceridgemisches mit dem Basismedium wurde wie oben beschrieben hergestellt. Der

entfettete Nährboden wurde folgendermaßen gewonnen: BHI-Medium in Pulverform wurde in einem Gemisch von Chloroform und n-Hexan 1/1 suspendiert, 2 Stunden bei Zimmertemperatur gerührt, abfiltriert, gewaschen und der Rest des Lösungsmittels im Hochvakuum entfernt.

Sämtliche Nährböden wurden vor der Beimpfung 20 min. lang bei 110°C im Autoklaven sterilisiert.

Die Beimpfung der so gewonnenen Nährmedien erfolgte mit mehr als 10^8 koloniebildungsfähigen Keimen von C.acnes einer 7 Tage alten Kultur. Die Bebrütung der Röhrchen dauerte 10 Tage im Anaerobentopf bei 37°C. auch die unbeimpften Proben blieben 10 Tage unter anaeroben Bedingungen im Brutschrank. Am 10. Tag wurden sämtliche Proben steril filtriert.(Seitz-Laboratoriumsfilter, Filtertyp EKS I, Filtrationsdruck 2 - 3 atm.) Anschließend wurden die Proben zur Trockene lyophilisiert. Von dem gewonnenen Lyophilisat wurden 50%ige Lösungen mit aq. dest. hergestellt. Diese Lösungen gelangten zur klinischen Testung.

Die einzelnen Testproben zeigten untereinander charakteristische Unterschiede bezüglich Konsistenz und Geruch. Während der unbeimpfte Nährboden, entfettet oder nicht entfettet, eine sehr dünnflüssige Konsistenz aufwies und lediglich dem Eigengeruch von BHI-Medium entsprach, fiel bei den beimpften Nährböden eine mehr dickflüssige, zähe Konsistenz und ein typischer Geruch mittelkettiger Fettsäuren wie Caprinsäure auf.

II Klinische Methodik

Zur klinischen Testung der oben aufgeführten Proben wurden 20 Patienten mit Akne vulgaris und 30 Normalpersonen ausgesucht. Unter den Normalpersonen befanden sich 22 Frauen und 8 Männer, bei den Aknepatienten 10 Frauen und 10 Männer. Die Normalpersonen waren alle Patienten der Hautklinik ohne irgendwelche feststellbaren acneiformen Hauterscheinungen, wobei es sich zum weitaus größten Teil um Patienten mit ulcera cruris handelte. Der Personenkreis der Aknepatienten erfaßte sowohl leichte als auch schwere Erscheinungsbilder der Akne vulgaris, wobei stets darauf geachtet wurde, daß der Rücken möglichst frei von Effloreszensen war, um eine objektive Testung durchführen zu können.

Als Testort wurde ausschließlich die Haut des Rückens gewählt, wobei die einzelnen Testpflaster links und rechts der Wirbelsäule in Höhe der Schulterblätter aufgebracht wurden. Die Testpflaster bestanden aus reizlosem Leuko-silk, um möglichst jegliche Überlagerungsreaktionen ausschließen zu können. Jede Testsubstanz wurde auf zwei verschiedene Arten auf die Haut gebracht:

1. In Form eines reinen Epikutantestes, wobei die Rückenhaut vor Aufbringung der Testpflaster lediglich mit Benzin abgewaschen wurde.
2. Nach vorausgegangenem 6-fachem Tesafilm-Abriß. Der Abriß erfolgte mit 2 cm breiten Tesafilm-Streifen, wobei davon ausgegangen wurde, daß nach 6-fachem Abriß noch keine unspezifischen Hautreizungen zu erwarten sind.

Die einzelnen Testproben wurden mit Hilfe eines Holzstäbchens auf die Testpflaster aufgetupft, bis diese gut durchtränkt erschienen und mit Leuko-silk Pflaster auf die präparierte Rückenhaut aufgeklebt. Dabei wurde

jeder Stamm gesondert dem beschriebenen Testmodus unterworfen. Die Testpflaster wurden nach 48 Stunden entfernt und die Hautreaktionen auf beiden Seiten nach weiteren 20 Minuten abgelesen.
Die Beurteilung der Reaktionen erfolgte nach folgenden Kriterien:

0 = Keine sichtbare Reaktion.
1 = Follikulär begrenztes Erythem.
2 = Konfluiertes Erythem mit peripherer follikulärer Reizung.
3 = Papel-Bildung mit umgebendem Erythem.
4 = Konfluierende Papeln (infiltriertes Erythem).
5 = Pustel-Bildung mit Erythem.

Nach 72 Stunden wurde eine erneute Inspektion der getesteten Hautstellen vorgenommen. Es zeigte sich aber, daß weder die bestehenden Hautreizungen, die nach 48 Stunden festgestellt worden waren, stärker wurden, noch irgendwelche neu auftretenden Effloreszensen zu beobachten waren. Daher erschien diese Ablesung nicht mehr als notwendig und wurde bei der Testung der Aknepatienten weggelassen. Auch sind die Beurteilungen dieser 72 Stunden-Inspektion in den einzelnen Tabellen nicht aufgeführt, da sie zu den Ergebnissen keine neuen Gesichtspunkte beitragen würden.

Von zwei Testpersonen, es handelte sich hierbei um Normalpersonen, wurden an den Stellen der stärksten Reaktion Probeexzisionen gemacht, die anschließend histologisch ausgewertet wurden, um die Art der Reaktion näher beschreiben zu können. Um die Frage beantworten zu können, ob die von C. acnes abgegebenen Reizstoffe für die Haut hitzelabiler oder hitzestabiler Natur sind, wurde schließlich noch folgender klinischer Versuch angestellt:
Es wurde ein Gemisch hergestellt aus allen 5 beimpften (Stamm A - E) entfetteten Nährböden. Die eine Hälfte

dieses Gemisches wurde 10 min. lang aufgekocht, die andere Hälfte so belassen. Genauso wurde mit den unbeimpften entfetteten Nährböden verfahren. Zur anschließenden klinischen Testung gelangten also nach erfolgter Sterilfiltration folgende Testsubstanzen:

1. Gemisch aus 5 beimpften (A - E) entfetteten Nährböden.
2. Gemisch aus 5 beimpften, (A - E) entfetteten Nährböden, 10 min. lang aufgekocht.
3. Unbeimpfter, entfetteter Nährboden.
4. Unbeimpfter, entfetteter Nährboden, 10 min. lang aufgekocht.

Diese vier Testsubstanzen wurden auf Leuko-silk Pflaster bei 20 Normalpersonen auf die vorher durch 6 Tesafilmabrisse präparierte Rückenhaut gebracht und die Ergebnisse nach 48 Stunden abgelesen. Die Ergebnisse finden sich auf Tab. 11. 4 Personen aus dieser Testserie zeigten Pflasterreaktionen und konnten deshalb in der Auswertung nicht mit berücksichtigt werden. Die Beurteilung der Reaktionen erfolgte nach denselben Kriterien wie bei den anderen Tests.

Die histologische Auswertung der Probeexzisionen wurde von Prof. Stüttgen und Prof. Nürnberger durchgeführt und folgendermaßen befundet:

1. Befund: Im oberen Corium und subepidermal zeigen sich Ödem sowie vorwiegend lymphozytäre Infiltrate, welche an die Epidermis andrängen und in sie eindringen. Die Epidermis selbst zeigt in diesem Bereich Spongiose der unteren Epidermisschichten. Das Stratum corneum fehlt weitgehend (Folge des Tesafilm-Abrisses).

2. Befund: Strichförmige Hyper- und Parakeratose. Im oberen Corium finden sich perivasculäre, vorwiegend lyphoplasmazelluläre Infiltrate, die z.T. manschettenförmig um die Gefäße herum angeordnet sind.

ERGEBNISSE:

Die folgenden Tabellen zeigen zunächst den starken Unterschied in der Reaktionsstärke zwischen reinem Epikutantest und Abrißtest.

Danach folgen die Tabellen mit den Reaktionen der verschiedenen Probanden auf die einzelnen Testmedien. Die Reaktionsstärken wurden, getrennt nach den Bakterienstämmen (A - E), und nach Epikutan- und Abrißtest nach den oben beschriebenen Kriterien bewertet. Die Summe der Reaktionsstärke wurde durch Addition der einzelnen Beurteilungszahlen über alle 5 Stämme ermittelt. Die Division dieser Zahl durch die Anzahl der Testpersonen ergab die durchschnittliche Reaktionsstärke $\bar{x}$.

Tab. 2 zeigt beim Test mit beimpften, mit Triglyceriden versetzten Nährböden (NB) bei Normalpersonen den starken Unterschied zwischen Epikutantest und Abrißtest.

	Anz. der getest. Personen	Zahl der pos. reag. Personen	gesamte Reaktionsstärke	durchschnittl. Reaktionsstärke
Epikutantest	30	10	24	0.80
Abrißtest	30	25	146	4.87

Tab. 3 Statistische Auswertung des Vergleichs der Reaktionsstärken zwischen Abrißtest u. Epikutantest, bei Normalpersonen bei Applikation von beimpften mit Triglyceriden versetzten NB.

Gruppe	n	Mittelwerte	Standardabw.	t	p
Abrißtest	150	0.97	$\pm$ 1,42	6.38	$< 0.0005^{+++}$
Epikutantest	150	0.16	$\pm$ 0,63		

Diese Tabelle zeigt, daß bei Normalpersonen der Abrißtest bei Applikationen mit Triglycerid versetzten Nährböden (beimpft) mit stat. Sicherheit stärkere Wirkung zeigt als der Epikutantest.

$^{+++}$ statistisch sicher $p \leq 0{,}0005$

Tab. 4 Unterschied in der Reaktionsstärke zwischen Epikutantest und Abrißtest bei Applikation von beimpften mit Triglyceriden angereicherten Nährböden bei Acnepat.

	Anz. der getest. Personen	Zahl der pos. reag. Personen	gesamte Reaktionsstärke	durchschnittl. Reaktionsstärke
Epikutantest	20	15	55	2.75
Abrißtest	20	19	152	7.60

Tab. 5 Statistische Auswertung des Vergleichs der Reaktionsstärken zwischen Abrißtest und Epikutantest bei Applikation von beimpften, mit Triglycerid angereicherten Nährböden bei Acnepatienten.

Gruppe	n	Mittelwerte	Standardabw.	t	p
Abrißtest	100	1.52	$\pm$ 1.69	4.67	$< 0{,}0005^{+++}$
Epikutantest	100	0.55	$\pm$ 1.20		

Die statistische Auswertung läßt erkennen, daß auch bei Acnepatienten der Abrißtest bei Applikation mit beimpften, mit Triglyceriden angereicherten Nährböden mit statistischer Sicherheit stärkere Wirkung zeigt als der Epikutantest.

Tab. 6 Reaktionen von 30 Normalpersonen auf den beimpften, mit Triglyceriden angereicherten Nährboden. Als Kontrolle diente derselbe unbeimpfte Nährboden.

Obere Reihe = Epikutantest
Untere Reihe = Abrißtest (6 x)

Testpersonen	Stammbezeichnung					unbeimpft. NB + Triglycerid
	A	B	C	D	E	
Pat. 1	0	0	0	0	0	0
	1	1	1	2	2	0
Pat. 2	0	0	0	0	0	0
	1	2	1	0	1	0
Pat. 3	0	0	0	0	0	0
	0	3	1	0	0	0
Pat. 4	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0
Pat. 5	0	0	0	0	0	0
	4	3	1	0	0	0
Pat. 6	0	0	0	0	0	0
	2	4	4	3	0	0
Pat. 7	0	0	3	0	0	0
	1	0	1	3	0	0
Pat. 8	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0
Pat. 9	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0
Pat.10	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	3	0	0
Pat.11	0	1	1	0	0	0
	0	0	2	2	0	0
Pat.12	0	0	0	0	0	0
	4	3	3	5	5	0
Pat.13	0	0	0	2	0	0
	0	2	2	3	2	0
Pat.14	0	0	0	0	0	0
	2	1	0	0	0	0

Testpersonen	Stammbezeichnung A	B	C	D	E	unbeimpft.NB + Triglycerid
Pat. 15	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
Pat. 16	0 2	0 2	0 0	0 3	0 3	0 0
Pat. 17	0 0	0 2	0 0	0 0	0 0	0 0
Pat. 18	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
Pat. 19	0 3	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
Pat. 20	0 4	0 2	0 0	0 1	0 0	0 0
Pat. 21	0 0	0 0	4 2	0 0	1 0	0 0
Pat. 22	0 1	0 1	0 0	0 0	0 0	0 0
Pat. 23	1 1	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
Pat. 24	0 0	0 0	0 1	0 0	0 1	0 0
Pat. 25	1 0	0 0	0 1	0 0	0 1	0 0
Pat. 26	0 0	0 2	0 0	0 0	1 0	0 0
Pat. 27	0 4	0 0	0 0	3 0	0 0	0 0
Pat. 28	0 0	0 0	0 0	0 0	0 1	0 0
Pat. 29	0 5	1 0	0 3	0 5	0 0	0 0
Pat. 30	4 5	1 5	0 0	0 1	0 0	0 0
Summe der Reakt.stärke	6 42	3 33	8 23	5 32	2 16	0 0 = $\frac{24}{146}$

Durchschnittl. $\bar{x}$ = 0,80
Reak.stärke $\bar{x}$ = 4,87

Tab. 7 Reaktionen von 20 Patienten mit Acne vulgaris auf beimpfte, mit Triglyceriden angereicherte Nährböden. Als Kontrolle diente derselbe Nährboden unbeimpft.

Obere Reihe = Epikutantest
Untere Reihe = Abrißtest (6 x)

Testpersonen	Stammbezeichnung					unbeimpft. NB + Triglycerid
	A	B	C	D	E	
Pat. 1	0	0	0	0	0	0
	0	3	3	0	0	0
Pat. 2	0	0	0	0	0	0
	4	4	4	0	5	0
Pat. 3	0	0	5	0	0	0
	3	5	5	0	0	0
Pat. 4	3	0	0	5	0	0
	5	5	5	3	0	0
Pat. 5	0	0	0	0	0	0
	0	3	0	2	0	0
Pat. 6	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	2
Pat. 7	0	3	3	0	0	0
	0	0	0	0	3	0
Pat. 8	0	0	0	1	0	0
	2	3	3	3	2	0
Pat. 9	0	0	0	1	0	0
	0	1	0	3	0	0
Pat. 10	3	5	0	0	5	0
	3	3	3	3	3	0
Pat. 11	0	0	2	2	0	0
	0	2	1	0	0	0
Pat. 12	0	1	0	0	0	0
	3	3	3	0	0	0
Pat. 13	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0

Testpersonen	Stammbezeichnung					unbeimpft.NB + Triglycerid
	A	B	C	D	E	
Pat. 14	0	0	2	0	1	0
	0	0	3	1	0	0
Pat. 15	0	1	2	1	0	0
	4	3	2	4	4	0
Pat. 16	0	0	1	0	0	0
	0	0	0	2	0	0
Pat. 17	3	0	0	0	0	0
	0	3	3	0	0	0
Pat. 18	0	1	0	0	0	0
	3	1	3	3	0	0
Pat. 19	0	0	1	1	0	0
	0	0	0	1	3	0
Pat. 20	0	0	1	0	1	0
	0	0	0	1	0	0
Summe der	9	11	17	11	7	0 = 55
Reakt.stärke	28	39	38	26	20	0 = 152
durchschnittl.	$\bar{x}$ = 2,75					
Reakt.stärke	$\bar{x}$ = 7,60					

Tab. 8 Reaktionen von 12 Normalpersonen auf beimpfte, ohne Triglyceride versetzte Nährböden. Als Kontrolle diente reiner Nährboden unbeimpft.

Obere Reihe = Epikutantest
Untere Reihe = Abrißtest (6 x)

Testpersonen	Stammbezeichnung A	B	C	D	E	unbeimpft. Nährboden
Pat. 1	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0
Pat. 2	0	0	0	0	0	0
	3	0	2	0	1	0
Pat. 3	0	0	0	0	0	0
	4	4	4	0	2	0
Pat. 4	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	1	0	0
Pat. 5	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0
Pat. 6	0	0	0	0	0	0
	2	2	0	0	0	0
Pat. 7	0	0	0	0	0	0
	0	2	0	0	0	0
Pat. 8	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0
Pat. 9	0	1	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0
Pat. 10	0	0	0	0	0	0
	2	0	1	0	0	0
Pat. 11	0	1	0	0	0	0
	0	0	2	0	0	0
Pat. 12	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0
Summe der Reakt.stärke	0	2	0	0	0	0 = 2
	13	8	9	1	3	0 = 34
Durchschnittl. Reakt.stärke	$\bar{x}$ = 0,17					
	$\bar{x}$ = 2,83					

Tab. 9 Reaktionen von 8 Normalpersonen auf beimpfte, entfettete Nährböden. Als Kontrolle dienten entfetteter Nährboden unbeimpft und reiner, nicht entfetteter Nährboden unbeimpft.

Obere Reihe = Epikutantest
Untere Reihe = Abrißtest (6 x)

Testpersonen	Stammbezeichnung A	B	C	D	E	NB nicht entf. unbeimpft	NB entf. unbeimpft
Pat. 1	0	0	0	0	0	0	0
	0	1	1	1	0	0	0
Pat. 2	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0
Pat. 3	1	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	1	0	0
Pat. 4	0	0	0	0	1	0	0
	4	1	0	2	0	0	0
Pat. 5	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0
Pat. 6	0	0	0	0	0	0	0
	0	1	0	0	0	0	0
Pat. 7	0	1	0	0	0	0	0
	3	0	3	0	3	0	0
Pat. 8	1	1	4	0	0	0	0
	1	0	3	1	0	0	0
Summe der	2	2	4	0	1	0	0 = 9
Reakt.stärke	8	3	7	4	4	0	0 = 26
Durchschnittl.	$\bar{x}$ = 1,15						
Reakt.stärke	$\bar{\bar{x}}$ = 3,25						

Tab. 10 Reaktionen von 20 Patienten mit Acne vulgaris auf beimpfte, entfettete Nährböden. Als Kontrolle dienten entfetteter, unbeimpfter Nährboden und nicht entfetteter unbeimpfter Nährboden.

Obere Reihe = Epikutantest
Untere Reihe = Abrißtest (6 x)

Testpersonen	Stammbezeichnung					nicht entf. NB unbeimpft	entf. NB unbeimpft
	A	B	C	D	E		
Pat. 1	0	0	3	3	3	0	0
	2	4	3	2	2	0	0
Pat. 2	0	0	0	0	0	0	0
	3	4	4	1	0	0	0
Pat. 3	0	0	0	0	0	0	0
	3	5	0	0	0	0	0
Pat. 4	0	3	0	5	5	0	0
	0	3	5	1	3	0	0
Pat. 5	0	0	3	0	0	0	0
	0	3	0	2	0	0	0
Pat. 6	0	0	0	0	0	0	0
	0	2	2	0	0	0	0
Pat. 7	0	0	1	0	0	0	0
	0	3	3	3	5	0	0
Pat. 8	1	0	0	2	3	0	0
	3	0	4	0	1	0	0
Pat. 9	0	0	0	2	0	0	0
	2	2	0	1	0	0	0
Pat. 10	0	0	5	5	0	0	0
	5	5	5	3	3	0	0
Pat. 11	2	0	0	1	0	0	0
	3	0	0	1	0	0	0
Pat. 12	4	1	5	1	1	0	0
	2	5	3	2	0	0	0
Pat. 13	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0

Testpersonen	Stammbezeichnung A	B	C	D	E	nicht entf. NB unbe- impft	entf. NB unbe- impft
Pat. 14	0	0	2	2	0	0	0
	0	0	2	0	0	0	0
Pat. 15	1	2	1	1	3	0	0
	4	4	4	4	4	0	0
Pat. 16	0	2	0	0	0	0	0
	1	1	1	2	1	0	0
Pat. 17	0	0	0	0	1	0	0
	2	2	1	0	3	0	0
Pat. 18	0	0	0	1	0	0	0
	3	1	2	0	0	0	0
Pat. 19	0	0	1	0	0	0	0
	0	1	0	2	3	0	0
Pat. 20	0	0	0	1	1	0	0
	0	0	0	1	0	0	0
Summe der	8	8	21	24	17	0	0 = 77
Reakt.stärke	33	45	39	25	25	0	0 = 169
Durchschnittl.	$\bar{x}$ = 3,85						
Reakt.stärke	$\bar{x}$ = 8,35						

Tab. 11 Reaktionen von 20 Normalpersonen auf Test mit einem Gemisch aus 5 beimpften (Stamm A - E) entfetteten Nährböden und denselben Nährböden nach 10 min. Aufkochen. Als Kontrolle dienten entfetteter, unbeimpfter Nährboden und derselbe Nährboden 10 min. aufgekocht.

Nur Abrißtest (6 x)

	5 Stämme Gemisch beimpft.entf. NB	5 Stämme Gemisch beimpft.entf. NB 10 min.aufgekocht	entfetteter unbeimpfter NB	entfetteter unbeimpfter NB 10 min. aufgekocht
Pat. 1	0	0	0	0
Pat. 2	3	2	0	0
Pat. 3	0	0	0	0
Pat. 4	./.	./.	./.	./.
Pat. 5	./.	./.	./.	./.
Pat. 6	3	0	0	0
Pat. 7	./.	./.	./.	./.
Pat. 8	1	0	0	0
Pat. 9	0	0	0	0
Pat.10	1	0	0	0

	5 Stämme Gemisch beimpft.entf. NB	5 Stämme Gemisch beimpft.entf. NB 10 min.aufgekocht	entfetteter unbeimpfter NB	entfetteter unbeimpfter NB 10 min. aufgekocht
Pat. 11	1	4	0	0
Pat. 12	1	0	0	0
Pat. 13	2	0	0	0
Pat. 14	1	0	0	0
Pat. 15	3	0	0	0
Pat. 16	2	0	0	0
Pat. 17	5	5	0	0
Pat. 18	1	1	0	0
Pat. 19	1	0	0	0
Pat. 20	./.	./.	./.	./.
Summe der Reakt.stärke	25	12	0	0
Durchschnittl. Reakt.stärke	$\bar{x}$ = 1,22	$\bar{x}$ = 0,6		

Tab. 12 zeigt die Reaktionsbereitschaft von 20 Patienten mit Acne vulgaris auf die einzelnen Stämme (A - E) von C. acnes auf beimpfte, mit Triglyceriden versetzten Nährböden.

Nur Epikutantest

Stamm Nr.	Zahl der pos.Reaktionen	gesamte Reaktionsstärke	durchschn. Reaktionsstärke
A	3/20	9	0,45
B	5/20	11	0,55
C	8/20	17	0,85
D	6/20	11	0,55
E	3/20	7	0,35

Tab. 13 zeigt die Reaktionsbereitschaft von 20 Patienten mit Acne vulgaris auf die einzelnen Stämme (A - E) von C. acnes auf beimpfte, mit Triglyceriden versetzten Nährböden.

Nur Abrißtest

Stamm Nr.	Zahl der pos. Reaktionen	gesamte Reaktionsstärke	durchschn. Reaktionsstärke
A	7/20	30	1,50
B	13/20	42	2,10
C	12/20	40	2,00
D	11/20	26	1,30
E	7/20	22	1,10

Tab. 14 zeigt die Reaktionsbereitschaft von 30 Normalpersonen auf die einzelnen Stämme (A - E) auf beimpfte, mit Triglyceriden versetzten Nährböden.

Nur Epikutantest

Stamm Nr.	Zahl der pos.Reaktionen	gesamte Reaktionsstärke	durchschn. Reaktionsstärke
A	3/30	6	0,20
B	3/30	3	0,10
C	3/30	8	0,26
D	2/30	5	0,16
E	2/30	2	0,06

Tab. 15 zeigt die Reaktionsbereitschaft von 30 Normalpersonen auf die einzelnen Stämme (A - E) auf beimpfte, mit Triglyceriden versetzten Nährböden.

Nur Abrißtest

Stamm Nr.	Zahl der pos.Reaktionen	gesamte Reaktionsstärke	durchschn. Reaktionsstärke
A	16/30	41	1,36
B	14/30	33	1,10
C	13/30	23	0,76
D	11/30	34	1,11
E	9/30	18	0,60

Die folgenden Tabellen zeigen vergleichend die Reaktionen der einzelnen Testsubstanzen bei Normalpersonen und Acnepatienten bzw. die Reaktionsunterschiede innerhalb der verschiedenen Testproben. Es wurde hierbei so verfahren, daß, getrennt nach Epikutantest und Abrißtest, zunächst die Anzahl der positiv reagierenden Personen aufgeführt und anschließend die Reaktionsergebnisse dieser positiv reagierenden Personen summiert wurden. Diese Zahl ergab die gesamte Reaktionsstärke. Die Division dieses Wertes mit der Gesamtzahl der getesteten Personen, auch mit denen, die negativ reagierten, ergab die durchschnittliche Reaktionsstärke. Dieser Wert wurde als Vergleichszahl verwendet.

Tab. 16 Vergleich zwischen den Reaktionen bei Test mit beimpftem, mit Triglyceriden angereichertem Nährboden und demselben unbeimpften Nährboden. 20 Acnepatienten

	NB beimpft + Trigl.		NB unbeimpft + Trigl.	
	Epikutan	Abriß	Epikutan	Abriß
Anzahl der pos. reag. Personen	15/20	19/20	0/20	0/20
gesamte Reaktionsstärke	55	152	0	0
durchschn. Reakt.stärke	2,75	7,60	0	0

Tab. 17 Vergleich zwischen den Reaktionen bei Test mit beimpftem, mit Triglyceriden angereichertem Nährboden, beimpftem Nährboden ohne Triglyceride und beimpftem, entfettetem Nährboden bei Normalpersonen.

	Beimpfter + Trigl. Nährboden 30 Patienten		Beimpfter Nährboden ohne Triglycerid 12 Patienten		Beimpfter, entfetteter Nährboden 8 Patienten	
	Epikutan	Abriß	Epikutan	Abriß	Epikutan	Abriß
Zahl der pos. reag. Personen	10/30	25/30	2/12	6/12	4/8	6/8
gesamte Reaktionsstärke	24	146	2	34	9	26
durchschn. Reaktionsstärke	0,80	4,87	0,17	2,83	1,15	3,25

Tab. 18 Vergleich zwischen den Reaktionen bei Test mit beimpftem, mit Triglyceriden angereichertem Nährboden und entfettetem, beimpftem Nährboden.

20 Acnepatienten

	Beimpft. + Trigl. Nährboden		Beimpft., entfetteter Nährboden	
	Epikutan	Abriß	Epikutan	Abriß
Zahl der pos. reag. Personen	15/20	19/20	16/20	19/20
gesamte Reaktionsstärke	55	152	77	167
durchschn. Reaktionsstärke	1,75	7,60	3,85	8,35

Tab. 19 Vergleich zwischen Aknepatienten und Normalpersonen bei Reaktion auf beimpftem, mit Triglyceriden angereichertem Nährboden.

	Aknepatienten		Normalpersonen	
	Epikutan	Abriß	Epikutan	Abriß
Zahl der pos.reag. Personen	15/20	19/20	10/30	25/30
gesamte Reaktionsstärke	55	152	24	146
durchschn. Reaktionsstärke	2,75	7,60	0,80	4,87

Tab. 20 Vergleich zwischen Aknepatienten und Normalpersonen bei Reaktion auf beimpftem, entfettetem Nährboden.

	Aknepatienten		Normalpersonen	
	Epikutan	Abriß	Epikutan	Abriß
Zahl der pos.reag. Personen	16/20	19/20	4/8	6/8
gesamte Reaktionsstärke	77	167	9	26
durchschn. Reaktionsstärke	3,85	8,35	1,15	3,25

Die folgenden Tabellen zeigen auf, ob die Unterschiede bei den Vergleichen der Reaktionen von Aknepatienten zu Normalpersonen bzw. der einzelnen Testsubstanzen untereinander statistisch gegeneinander abgrenzbar sind oder nicht. Die statistische Berechnung erfolgte jeweils nach dem Student-Test.
Da keine wesentlichen Unterschiede in der Reaktionsbereitschaft der Versuchspersonen auf die einzelnen Stämme festzustellen waren, wurden die Ablesungen je Patientengruppe über alle 5 Stämme summiert.

Tab. 21 Statistische Auswertung der Vergleichsreaktionen von beimpftem, mit Triglyceriden angereichertem Nährboden (NB_{Tr}), mit beimpftem Nährboden ohne Triglyceride (NB) und beimpftem, entfettetem Nährboden (BN_E) bei Normalpersonen.

Nur Abrißtest (6 x)

Bezogen auf Tab.	Gruppe	n	Mittelwerte	Stand. abw. = S_A	t	p
17	NB_{Tr}	150	0,97	∓ 1,42	1,95	$0,025^{++}$
	NB	60	0,57	∓ 1,11		
17	NB_{Tr}	150	0,97	∓ 1,42	0,99	$0,15^{+}$
	NB_E	40	0,65	∓ 1,10		
17	NB	60	0,57	∓ 1,11	0,35	$0,35^{+}$
	NB_E	40	0,65	∓ 1,10		

$^{+++}$ = statistisch sicher $p \leqq 0,0005$
$^{++}$ = statistisch auffällig $p = 0,01 - 0,05$
$^{+}$ = statistisch nicht gesichert $p \geqq 0,01$

Tab. 21 zeigt, daß innerhalb der Gruppe der Normalpersonen ein statistisch auffälliger Unterschied besteht zwischen den Reaktionen mit beimpftem, mit Triglyceriden angereichertem Nährboden und beimpftem ohne Triglyceriden angereichertem Nährboden, allerdings nur bei dem Test mit vorausgegangenem 6-fachen Tesafilm-Abriß. Ein statistisch sicherer Unterschied konnte bei den beiden anderen Vergleichen nicht erbracht werden.

Tab. 22 Statistische Auswertung des Vergleichs der Reaktionen zwischen Aknepatienten und Normalpersonen bei Test mit beimpftem, mit Triglyceriden versetztem Nährboden. Ausgewertet wurden sowohl der Epikutantest als auch der Abrißtest.

A_E = Aknepatient - epikutan
A_S = Aknepatient - Abriß
N_E = Normalperson- epikutan
N_S = Normalperson- Abriß

Bezogen auf Tab.	Gruppe	n	Mittelwerte	S_A	T	p
19	A_E	100	0,55	$\mp$ 1,20	3,25	$<0,0005^{+++}$
	N_E	150	0,16	$\mp$ 0,63		
19	A_S	100	1,52	$\mp$ 1,69	3,45	$<0,0005^{+++}$
	N_S	150	0,97	$\mp$ 1,42		

Aus Tab. 22 wird ersichtlich, daß mit statistischer Sicherheit die Aknepatienten sowohl beim Epikutantest als auch beim Abrißtest nach Applikation von beimpftem mit Triglyceriden angereichertem Nährboden eine stärkere Hautreaktion zeigten als Normalpersonen bei demselben Test.

Tab. 23 Statistische Auswertung des Vergleichs der Hautreaktionen zwischen Aknepatienten (A) und Normalpersonen (N) bei Test mit beimpftem, entfettetem Nährboden. Ausgewertet wurden lediglich die Abrißteste.

Bezogen auf Tab.	Gruppe	n	Mittelwerte	S_A	t	p
18	A	100	1,67	$\mp$ 1,65	3,59	$< 0{,}0005^{+++}$
17	N	40	0,65	$\mp$ 1,10		

Aus Tab. 23 kann man ersehen, daß die Aknepatienten bei Abrißtest mit beimpftem, entfettetem Nährboden mit statistischer Sicherheit eine stärkere Irritation der Haut aufweisen als die Normalpersonen.

Tab. 24 Statistische Auswertung des Vergleichs der Hautreaktionen bei Test mit beimpftem, mit Triglyceriden versetztem Nährboden und beimpftem, entfettetem Nährboden bei Aknepatienten. Ausgewertet wurden sowohl Epikutan- als auch Abrißtest.

NB_{TRe} = Nährboden + Triglycerid - epikutan
NB_{TRA} = Nährboden + Triglycerid - Abriß
NB_{Ee} = Nährboden entfettet - epikutan
NB_{EA} = Nährboden entfettet - Abriß

Bezogen auf Tab.	Gruppe	n	Mittelwerte	S_A	t	p
18	NB_{TRe}	100	0,55	$\mp$ 1,20	1,26	$>0,1^+$
	NB_{Ee}	100	0,77	$\mp$ 1,37		
18	NB_{TRA}	100	1,52	$\mp$ 1,69	0,64	$>0,25^+$
	NB_{EA}	100	1,67	$\mp$ 1,65		

ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE:

Wie schon oben berichtet, konnte auf festen Nährmedien, die mit Triglyceriden emulgiert waren, nach einer Bebrütungszeit von 9 Tagen Aufklarungszonen um die Kolonien von C. acnes festgestellt werden. Diesselbe Beobachtung konnte auch bei beimpften, flüssigen Nährmedien gemacht werden. Die unbeimpften Kontrollmedien blieben unverändert trübe. Da diese Veränderungen bei allen 5 verwandten Stämme von C. acnes auftraten, liegt die Vermutung nahe, daß lipolytische Prozesse zur Auflösung der Emulsion geführt haben. Eine weitere mikrobiologische Prüfung dieses Phänomens konnte allerdings im Rahmen dieser Arbeit nicht angestellt werden.

Die Ergebnisse der klinischen Testungen können zu folgenden Punkten zusammengefaßt werden:

1. Alle Ablesungen auf die verschiedenen Kontrollproben, also auf die Testmedien, die nicht mit C. acnes beimpft worden waren, fielen negativ aus (Tab. 6 - 11). Das bedeutet, daß einem positiven Ausfall der Hauttestung in jedem Falle eine Relevanz zukommt, mit anderen Worten, alle positiven Reaktionen sind an die vorausgegangene Bebrütung der Nährböden mit C. acnes gebunden und damit auf eine spezifische Stoffwechselleistung des Bakteriums zurückzuführen.

2. Die Reaktion auf beimpfte, mit Triglyceriden angereicherte Nährböden war nach 6-fachem Tesafilm-Abriß stets wesentlich stärker als nach reiner epikutaner Applikation der Testsubstanzen. Sowohl bei Normalpersonen als auch bei Aknepatienten ließ sich der Unterschied jeweils mit $p < 0{,}0005$ statistisch sichern (Tab. 2 - 5, 12 - 15).

3. Die Reaktionsbereitschaft der Probanden zeigte keine wesentlichen Unterschiede in Bezug auf die einzelnen Stämme von C. acnes (Tab. 12 - 15). Eine Durchsicht der

Tabellen 6 - 11 mit den Reaktionen auf die einzelnen Stämme zeigt, daß eine spezifische Reaktion einer Testperson auf einen einzelnen Stamm nicht zu erkennen ist. Vielmehr reagieren die Versuchspersonen in der Mehrzahl der Fälle auf mehrere Stämme gleichzeitig. Ferner ist die Reaktionsstärke eher für die einzelne Versuchsperson typisch, d.h., reagiert sie auf einen Stamm stark, so reagiert sie im wesentlichen auch auf die anderen Stämme deutlich. Dies bedeutet, daß die Reaktionsbereitschaft auf Stoffwechselprodukte von C. acnes mehr eine individuelle Eigenschaft der Versuchsperson darstellt.

4. Die Aknepatienten reagierten stärker auf die Testproben als die Normalpersonen (Tab. 19,20).

5. Sowohl Aknepatienten als auch Normalpersonen reagierten auch auf ein Kultur-Filtrat positiv, dessen Medium vor dem Beimpfen entfettet worden war und keine zusätzlichen Triglyceride enthielt (Tab. 9,10,17,18,20).
Tab. 18 zeigt, daß die Reaktionsstärke der Aknepatienten auf diese Proben sogar stärker ausfiel als auf einen beimpften Nährboden der Triglyceride enthielt. Der Unterschied konnte jedoch statistisch nicht gesichert werden (Tab. 24).

6. Vergleicht man die Reaktionsstärken der Aknepatienten mit denen von Normalpersonen bei Test mit beimpftem, mit Triglyceriden versetztem Nährboden, so zeigt sich, daß die Aknepatienten sowohl beim Epikutantest als auch beim Abrißtest mit statistischer Sicherheit stärker reagierten als die Normalpersonen (Tab. 19,22). Auch beim Abrißtest mit beimpftem, entfettetem Nährboden läßt sich der stärkere Reaktionsausfall an Aknepatienten gegenüber den Normalpersonen mit $p < 0{,}0005$ statistisch sichern (Tab. 17,18,23).

7. Normalpersonen reagierten im Abrißtest stärker auf das beimpfte Kulturfiltrat mit Triglyceridzusatz als auf das

ohne Triglyceride (Tab. 17). Der Unterschied war mit $p = 0{,}025$ statistisch auffällig (Tab. 21). Der Unterschied in der Reaktionsstärke zwischen beimpftem Nährboden mit Triglyceriden und beimpftem, entfettetem Nährboden innerhalb derselben Probandengruppe konnte statistisch nicht gesichert werden. Dasselbe gilt beim Vergleich der Reaktionsstärken zwischen beimpftem, reinem Nährboden und beimpftem, entfettetem Nährboden (Tab. 17,21).

DISKUSSION

Im Sinne der in der Einleitung gegebenen Fragestellung kann zunächst festgestellt werden, daß unter den hier gegebenen Bedingungen C. acnes in der Lage ist, aus einem Nährboden in ausreichender Menge Schadensstoffe freizusetzen, die zu einer Irritation der Haut führen. Zumindest bei diesen Untersuchungsreihen werden sie jedoch auch aus einem Substrat, welches als fettfrei gelten kann, gebildet. Somit kann gesagt werden, daß die hautirritierenden Substanzen nicht nur in der Reihe der freien Fettsäuren zu suchen sind. Vielmehr zeigen die Ergebnisse, daß bei Kultur in entfetteten Nährmedien sogar mehr oder stärker wirkende Schadensstoffe zumal für den Aknepatienten entstehen. Insofern läßt sich die anfangs angeführte Hypothese nicht schlüssig beweisen, nämlich, daß die Fähigkeit von C. acnes, aus Triglyceriden im Talg freie Fettsäuren einer bestimmten Kettenlänge freizusetzen, einen ausschlaggebenden Faktor in der Pathogenese der Akne vulgaris darstellt.

Für den Befund, daß auch in fettfreien Medien irritierende Stoffe gebildet werden, hätte sich nun folgende Erklärungsmöglichkeit angeboten: Bei der hier durchgeführten Aufarbeitung der Nährmedien nach Bebrütung und anschließender Steril-Filtration ist es ohne weiteres denkbar, daß vom Bakterium ausgeschiedene Lipasen in ihrer Aktivität voll erhalten bleiben. Sie könnten daher unter den gewählten Testbedingungen in den Follikel diffundieren, dort Fettsäuren aus den Triglyceriden des Talgs freisetzen und damit die Reizung veranlassen. Diese Möglichkeit konnte jedoch dadurch ausgeschlossen werden, daß das irritierende Agens 10-minütiges Kochen noch zu ca. 50 % überstand. Unter diesen Bedingungen wären etwa vorhandene Lipasen völlig denaturiert worden.

Im Prinzip bleiben damit für diesen Befund 3 Gruppen von Schadensstoffen zu diskutieren:

1. Es werden andere Substanzen als Triglyceride vom Bakterium zu hautirritierenden Stoffen metabolisiert.
2. Das Bakterium scheidet Toxine aus.
3. Es werden mikrobielle Allergene ausgeschieden, die mit entsprechenden, schon vorliegenden Immunozyten bzw. Antikörper in Form einer allergischen Reaktion reagieren (13).

In jedem Fall müßten Aknepatienten eine größere Prädisposition für das Agens besitzen, da sie - wie die Untersuchungen zeigen - stärker auf die Reizstoffe reagieren, als dies die Normalpersonen tun. Eine Entscheidung, zu welchen Gruppen letztere gehören, lassen die vorliegenden Ergebnisse nicht zu.

Es ist demnach zwar nicht möglich, auf diesem Wege eine Beteiligung freier Fettsäuren aus dem Metabolismus der Bakterien als pathogenen Faktor der Akne vulgaris auszuschließen, jedoch muß in Betracht gezogen werden, daß sie nicht das alleinige Irritations-Agens darstellen. Vielmehr bildet C. acnes Substanzen, die weder Enzyme noch Fettsäuren darstellen und trotzdem eine starke Hautreizung hervorrufen können.

ZUSAMMENFASSUNG

Corynebakterium acnes wurde in mit Triglycerid emulgierten sowie fettfreien Nährmedien gezüchtet. Die Steril-Filtrate dieser Medien wurden im Epikutantest sowie nach Tesafilm-Abriß bei Aknepatienten und Vergleichspersonen auf ihre hautirritierende Wirkung geprüft. Sowohl auf die Kulturfiltrate der mit Fett angereicherten als auch entfetteter Nährmedien traten deutlich positive Hautreaktionen auf. Die Aknepatienten reagierten statistisch signifikant stärker auf diese Medien. Versuchspersonen reagierten auch noch auf entfettete Steril-Filtrate, nachdem diese hitzedenaturiert worden waren. C. acnes setzt also auch aus fettfreien Nährmedien Schadensstoffe für die Haut frei, die demzufolge weder freie Fettsäuren noch Lipasen darstellen.

LITERATUR

1. DORDACOVA, J. and F. VYMOLA:
Die Empfindlichkeit von Corynebacterium Acnes gegen Antibiotica.
Arzneim. Forsch. 19, (1969), 386.

2. FAGET, H. and E. LANDES:
Untersuchungen über die Wirkung der Tetracycline bei der Acne vulgaris.
Hautarzt 19, (1968), 469.

3. JUHLIN, L. and S. LIDEN:
A Quantitative Evaluation of the Effect of Oxytetracycline and Doxycycline in Acne Vulgaris.
Br. J. Derm. 81, (1969), 154.

4. KELLUM, R.E.:
Acne Vulgaris
Studies in Pathogenesis: Relative Irritancy of Free Fatty Acids from C_2 to C_{16}
Arch. Derm. 97, (1968), 722.

5. KELLUM, R.E., K. STRANGFELD and L.F. RAY:
Acne Vulgaris
Studies in Pathogenesis:
Triglyceride Hydrolysis by Corynebacterium acnes in vitro
Arch. Derm. 101, (1970), 41.

6. KRAUS, J.:
Reduction in Skin Surface Free Fatty Acids with Topical Tetracycline.
J. invest. Derm. 51, (1968), 431.

Tabelle V

p(bar)	$\rho(\frac{g}{cm^3})$	n	$z.10^2$	$LL(\frac{cm^3}{mol})$	$LL^*(\frac{cm^3}{mol})$
	f) T = 489,17 K (t = 216,02°C)				
43,15	0,36683	1,20258	20,87	25,47	122,0
45,11	0,37469	1,20708	21,36	25,46	119,2
47,07	0,38176	1,21110	21,88	25,45	116,3
51,00	0,39145	1,21668	23,11	25,44	110,1
52,96	0,39625	1,21942	23,75	25,43	107,3
56,99	0,40396	1,22388	24,98	25,42	101,8
60,80	0,41057	1,22767	26,27	25,41	96,73
64,72	0,41673	1,23123	27,55	25,41	92,21
70,61	0,42445	1,23573	29,51	25,40	86,07
78,45	0,43307	1,24071	32,14	25,39	79,00
86,30	0,44057	1,24505	34,75	25,38	73,03
94,14	0,44725	1,24894	37,38	25,37	67,94
101,99	0,45319	1,25241	39,93	25,37	63,53
109,84	0,45863	1,25560	42,49	25,36	59,69
117,68	0,46334	1,25836	45,06	25,35	56,27
129,45	0,47016	1,25236	48,85	25,35	51,89
141,22	0,47644	1,26605	52,58	25,34	48,19
154,95	0,48282	1,26982	57,55	25,34	44,50
166,71	0,48784	1,27280	60,63	25,33	41,78

Tabelle VI: n-Hexan

p(bar)	$\rho(\frac{g}{cm^3})$	n	$z.10^2$	$LL(\frac{cm^3}{mol})$	$LL^*(\frac{cm^3}{mol})$
	a) T = 293,25 K (t = 20,10°C)				
0,098	0,64835	1,36780	0,053	29,91	559,40
18,24	0,65044	1,36899	9,909	29,90	301,6
39,23	0,65259	1,37027	21,25	29,89	140,7
78,45	0,65674	1,37267	42,22	29,87	70,75
117,68	0,66050	1,37488	62,97	29,86	47,42
156,91	0,66417	1,37704	83,50	29,85	35,74
166,71	0,66509	1,37754	88,60	29,84	33,68
	b) T = 362,25 K (t = 89,10°C)				
1,96	0,59175	1,33336	0,939	29,99	3164,4
39,23	0,59846	1,33768	18,75	30,00	159,9
78,45	0,60512	1,34186	37,10	30,00	80,87
117,68	0,61118	1,34558	55,09	29,99	54,44
156,91	0,61683	1,34906	72,47	29,99	40,43
166,71	0,16814	1,34983	77,17	29,99	38,86
	c) T = 403,60 K (t = 130,45°C)				
4,51	0,56539	1,31638	2,047	29,92	1460,0
7,85	0,56565	1,31697	3,835	29,96	841,2
10,98	0,56597	1,31756	4,984	30,00	601,7
31,38	0,57063	1,32114	14,12	30,06	212,8
58,84	0,57762	1,32551	26,16	30,06	115,9
78,45	0,58239	1,32840	34,60	30,06	86,87
117,68	0,59085	1,33339	51,15	30,03	58,72
156,91	0,59852	1,33790	67,33	30,01	44,58
166,71	0,60046	1,33895	71,30	30,00	42,07

22. GORDON, S. and P. HASSING:
Inhibition of Corynebacterium acnes
Lipase by Tetracycline
J. invest. Derm. 56, (1971), 189.

23. MARPLES, R.R., D.T. DOWNING and A.M. KLIGMANN:
Control of free fatty acids in human surface
lipids by Corynebacterium acnes.
J. invest. Derm. 50, (1971), 127.

24. RAY, T. and R.E. KELLUM:
Acne vulgaris
Studies in Pathogenesis: Free Fatty Acid
Irritancy in Patients with and without Acne.
J. invest. Derm. 57, (1971), 6.

Herzlich bedanken möchte ich mich bei Prof. Dr.Dr. Staib, Direktor und Prof. am Robert-Koch-Institut Berlin, durch dessen freundliche Unterstützung die bakteriologischen Untersuchungen dieser Arbeit ermöglicht wurden.

Außerdem gilt mein Dank Herrn Dr. Schaefer, dem Leiter des Forschungslabors der Hautklinik im Rudolf-Virchow-Krankenhaus für seine vielen wertvollen Ratschläge.

Lebenslauf

Am 8. Mai 1945 wurde ich als Sohn des Ingenieurs Hermann Hägele und seiner Ehefrau Margarete, geb. Rothenbacher, in Justingen/Münsingen geboren.

Von 1952 - 1956 besuchte ich die Grundschule in Stuttgart-Zuffenhausen, danach wechselte ich auf das Gymnasium Stuttgart-Zuffenhausen um, welches ich von 1956 - 1962 besuchte. 1962 siedelten wir nach Blaichach/Sonthofen um und ich wurde Schüler der Oberrealschule Oberstdorf, wo ich 1965 das Abitur bestand.

Im gleichen Jahr begann ich mit dem Studium der Human-Medizin an der Freien Universität Berlin. Nach bestandenem Vorphysikum 1966 und Physikum 1968 legte ich im März 1972 das Staatsexamen ab.

Im Rahmen meiner Medizinalassistentenzeit befinde ich mich zur Zeit auf der HNO-Abteilung im Rudolf-Virchow-Krankenhaus.

Druck:

Der Präsident der Freien Universität Berlin
- Universitätsdruckerei -

1 Berlin 41, Kelchstraße 31